Análisis CEDIA® Cocaína



IVD **Para Usarlo En Diagnóstico In Vitro**

REF 10016413 (3 x 17 mL Indiko Kit)
100086 (Kit de 3 x 17 mL)
100095 (Kit de 65 mL)
1661230 (Kit de 495 mL)

Indicaciones

El análisis CEDIA® Cocaína es un dispositivo médico para diagnóstico in vitro indicado para el análisis cualitativo y semicuantitativo de metabolitos de la cocaína en orina humana.

Para obtener un resultado analítico confirmado debe emplearse un método químico alternativo más específico. El método de confirmación recomendado es la técnica combinada de cromatografía de gases y espectrometría de masas (GC/MS)[1]. Al valorar resultados analíticos referentes a drogas, y sobre todo cuando se trata de resultados positivos preliminares, deben aplicarse consideraciones clínicas y el criterio profesional.

Resumen y explicación del análisis

La cocaína (benzoilmetilecgonina) se obtiene de la planta Erythroxylon coca, muy extendida en Sudamérica.[2-4]

La adicción de la cocaína es muy frecuente en EE.UU.[2,3,5] La cocaína puede provocar euforia, excitación, locuacidad, vivacidad, ansiedad, insomnio, hiperactividad, paranoia, psicosis grave e incluso el suicidio.[2,5,6]

La cocaína se metaboliza rápidamente, siendo menos del 5% eliminado en la orina en su estado original.[3,5,6] Los dos metabolitos mas importantes que se forman por hidrólisis enzimática y no enzimática son la benzoilecgonina y el éster metílico de ecgonina.[3,5-8] Los metabolitos pueden detectarse en la orina hasta 3 semanas después del consumo prolongado excesivo de cocaína.[9,10]

El análisis CEDIA Cocaína emplea la tecnología del ADN recombinante (patente estadounidense n.º 4708929) para producir un sistema único y homogéneo de enzimoinmunoanálisis.[11] Este análisis se basa en la enzima bacteriana β-galactosidasa, que se ha preparado genéticamente dividiéndola en dos fragmentos inactivos. Estos fragmentos se vuelven a asociar espontáneamente para formar una enzima totalmente activa que, en el formato del análisis, descompone un sustrato y genera un cambio de color que puede medirse mediante espectrofotometría.

En el análisis, la droga conjugada con un fragmento inactivo de la β-galactosidasa compite con la droga de la muestra en busca de un sitio de fijación de anticuerpos. Si la muestra contiene cocaína, ésta se fija al anticuerpo, permitiendo que los fragmentos inactivos formen una enzima activa. Los fragmentos inactivos forman una enzima activa. Si la muestra no contiene cocaína, el anticuerpo se fija a la cocaína conjugada en el fragmento enzimático inactivo e impide la recombinación de los fragmentos inactivos de β-galactosidasa, impidiendo a su vez la formación de una enzima activa. La cantidad de enzimas activas formadas y el correspondiente cambio de absorbancia es proporcional a la cantidad de droga presente en la muestra.

Reactivos

1 **Amortiguador de reconstitución de AE:** Contiene piperazina-N, N-bis (ácido 2-etanosulfónico), 0,54 µg/mL anticuerpo monoclonal de ratón anti-benzoilecgonina, sales de tampón, estabilizador y conservante.
1a **Reactivo de AE:** Contiene 0,171 g/L de aceptor enzimático, sales de tampón, detergente y conservante.
2 **Amortiguador de reconstitución de DE:** Contiene piperazina-N, N-bis (ácido 2-etanosulfónico), sales de tampón y conservante.
2a **Reactivo de DE:** Contiene 15,38 µg/L de donante enzimático conjugado a benzoilecgonina, 1,67 g/L de rojo de clorofenol-β-D-galactopiranósido, estabilizador y conservante.

Material adicional: Etiquetas de código de barras alternativas (números de catálogo 100086 y 100095 solamente. Consulte el modo de empleo en la hoja de aplicaciones específica del analizador). Envase de analizador vacío para trasvasar la solución DE/AE (n° de cat. 100095). Envase de analizador vacío para trasvasar la solución DE (número de catálogo 1661230 solamente).

Material adicional requerido (se vende por separado):

Calibrador CEDIA negativo
Calibrador CEDIA multidrogas con cutoffs primarios o
cutoffs clinicos primarios (300 ng/mL)
Calibrador CEDIA multidrogas con cutoffs secundarios (150 ng/mL)
Calibrador CEDIA multidrogas con cutoffs optativos (200 ng/mL)
Calibrador CEDIA multidrogas intermedio
Calibrador CEDIA multidrogas alto
Conjunto de controles para drogas en orina MGC Primary, (300 ng/mL)
Conjunto de controles para drogas en orina MGC Clinical, (300 ng/mL)
Conjunto de controles para drogas en orina MGC Select, (150 ng/mL)
Conjunto de controles para drogas en orina MGC Specialty, (150 ng/mL)

⚠ Precauciones y advertencias

Los reactivos contienen azida sódica. Evite el contacto con la piel y las mucosas. En caso de contacto, lave las áreas afectadas con abundante agua. En caso de contacto con los ojos o de ingestión, consulte inmediatamente con un médico. La azida sódica puede reaccionar con el plomo o el cobre de las cañerías y formar azidas metálicas potencialmente explosivas. Al desechar dichos reactivos debe enjuagarse siempre con abundante agua para evitar la acumulación de azidas. Limpie las superficies metálicas expuestas con hidróxido sódico al 10%.

Preparación y almacenamiento de los reactivos

A continuación se describe la preparación de las soluciones para los analizadores Hitachi. Consultar la aplicación específica al analizador para obtener más detalles. Extraiga el kit del almacenamiento refrigerado inmediatamente antes de preparar las soluciones.

Prepare las soluciones en el orden siguiente para reducir el riesgo de una posible contaminación.

Solución de donante enzimático R2: Conecte el envase 2a (reactivo de DE) al envase 2 (amortiguador de reconstitución de DE) utilizando uno de los adaptadores incluidos. Mezcle los líquidos mediante una suave inversión y asegúrese de que todo el material liofilizado del envase 2a pasa al envase 2. Evite la formación de espuma. Separe el envase 2a y el adaptador del envase 2 y deséchelos. Tape el envase 2 y déjelo reposar unos 5 minutos a temperatura ambiente. Mezcle de nuevo. Anote la fecha de la reconstitución en la etiqueta del envase.

Solución de aceptor enzimático R1: Conecte el envase 1a (reactivo de AE) al envase 1 (amortiguador de reconstitución de AE) utilizando uno de los adaptadores incluidos. Mezcle los líquidos mediante una suave inversión y asegúrese de que todo el material liofilizado del envase 1a pasa al envase 1. Evite la formación de espuma. Separe el envase 1a y el adaptador del envase 1 y deséchelos. Tape el envase 1 y déjelo reposar unos 5 minutos a temperatura ambiente (entre 15 y 25°C). Mezcle de nuevo. Anote la fecha de la reconstitución en la etiqueta del envase.

Número de catálogo 100095, analizador Hitachi 717, 911, 912 ó 914: Trasvase los reactivos reconstituidos a los envases de 100 mL vacíos R1 y R2 correspondientes suministrados con el kit. **Analizador Hitachi 917 y Sistema Modular Analytics P:** Utilice los reactivos reconstituidos sin trasvasar los envases. Deseche los envases de 100 mL vacíos.
Número de catálogo 1661230, analizador Hitachi 747 y Sistema Modular Analytics D: Trasvasar mediante el embudo parte de la solución R2 al envase suministrado de solución R2, adecuadamente etiquetado.

NOTA 1: Los componenetes suministrados en este kit deben utilizarse en su conjunto. No mezclar componentes de lotes diferentes.
NOTA 2: Para evitar la contaminación cruzada de los reactivos, no intercambie los tapones de los envases de reactivo. La solución R2 debe presentar un color amarillo-naranja. Un color rojo oscuro o rojo púrpura indica que el reactivo está contaminado y debe desecharse.
NOTA 3: Antes de realizar el análisis, las soluciones R1 y R2 deben estar a la temperatura de almacenamiento del compartimiento de reactivos del analizador. Para obtener más información, consulte la aplicación específica del analizador.
NOTA 4: Para garantizar la estabilidad de la solución de AE reconstituido, evite la exposición continuada y prolongada a luz brillante.

Almacene los reactivos a entre 2 y 8°C. **NO LOS CONGELE.** Para determinar la estabilidad de los componentes sin abrir, consulte la fecha de caducidad en las etiquetas de la caja o del envase.

Solución R1: 60 días refrigerada en el analizador a entre 2 y 8°C.
Solución R2: 60 días refrigerada en el analizador a entre 2 y 8°C.

Recogida y manipulación de muestras

Obtenga muestras de orina en recipientes limpios de cristal o plástico. Las muestras muy turbias deben centrifugarse antes del análisis. Trate la orina humana como material potencialmente infeccioso. Si se sospecha que la muestra puede estar adulterada, obtenga otra muestra para el análisis. La adulteración de las muestras de orina puede afectar a los resultados del análisis.

Las pautas indicadas en *The Mandatory Guidelines for Federal Workplace Drug Testing Programs; Final Guidelines;* Este comunicado recomienda que las muestras que no se analicen en los 7 días posteriores a su llegada al laboratorio se conserven en unidades de refrigeración seguras.[12]

Procedimiento del análisis

Para la realización de este análisis pueden utilizarse analizadores químicos capaces de mantener una temperatura constante, pipetear muestras, mezclar reactivos, medir índices enzimáticos y cronometrar la reacción de manera precisa. Microgenics, parte de Thermo Fisher Scientific puede suministrar hojas de aplicación con los parámetros específicos de los instrumentos.

Se suministran etiquetas de códigos de barras adicionales para la determinación semicuantitativa, sólo con los kits de 17 mL y 65 mL. Para utilizarlos, cubrir la etiqueta original del envase con la etiqueta correcta.

Control de calidad y calibración[13]

Análisis cualitativo

Para el análisis cualitativo de muestras, utilice el calibrador CEDIA multidrogas con cutoffs primarios, cutoffs clínicos primarios, cutoffs optativos o cutoffs secundarios (según el cutoff seleccionado) para analizar los resultados. Consultar la aplicación especifica del analizador.

Análisis semicuantitativo

Para el análisis semicuantitativo de los resultados de las muestras se usa el Calibrador Multidrogas con cutoffs Primarios, Clinicos, Opcionales o Secundarios (según el cutoff seleccionado) conjuntamente con los Calibradores Negativo, Intermedio y Alto.

Las prácticas correctas de laboratorio recomiendan analizar los controles cada día que se analicen las muestras y cada vez que se realice una calibración. Se recomienda efectuar dos niveles de controles: uno 25% por encima y otro 25% por debajo del valor de cutoff elegido. Utilice el conjunto CEDIA de controles multidrogas, el conjunto de controles clínicos, el conjunto de controles optativos (cutoff 300) o el conjunto de controles específicos (cutoff 150) para el control de calidad. Volver a calibrar el análisis si se cambian los reactivos o si los resultados de los controles exceden los límites fijados. Cada laboratorio debe fijar su propia frecuencia de control. Basar la evaluación del control de calidad en los valores que se obtengan para los controles, que deben quedar dentro de los límites especificados. Si se detectan tendencias o cambios repentinos de los valores, revise todos los parámetros operativos. Para obtener más ayuda, póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica al cliente. Todos los requisitos de control de calidad deben realizarse de acuerdo con las normas o los requisitos de acreditación locales, estatales o federales.

Resultados y valores esperados

Resultados cualitativos

El Calibrador CEDIA Multidrogas con cutoffs primarios o secundarios (según el cutoff seleccionado) se utiliza como referencia para distinguir entre muestras positivas y negativas. Las muestras que produzcan valores de respuesta iguales o superiores al valor de respuesta del calibrador se consideran positivas. Las muestras que produzcan valores de respuesta inferiores al valor de respuesta del calibrador se consideran negativas. Para obtener más información, consulte la aplicacións específica del analizador.

Resultados semicuantitativos

El calibrador multidrogas con cutoffs primarios, cutoffs clínicos primarios, cutoffs optativos o cutoffs secundarios, utilizado junto con el calibrador negativo y los calibradores multidrogas intermedio y alto, puede utilizarse para estimar la concentración relativa de metabolitos de la cocaína. Consultar la aplicación específica del analizador para obtener más detalles.

Cuando se informe de un resultado con una concentración se debe tener en cuenta que existen factores que pueden influir en el resultado de un test de orina, como pueden ser la ingestión de líquidos y otros factores biológicos.

Limitaciones

1. Un resultado positivo en el análisis indica la presencia de metabolitos de la cocaína; no indica ni mide la intoxicación.
2. Existe la posibilidad de que otras sustancias o factores no mencionados interfieran en el análisis y causen resultados falsos (p. ej., errores técnicos o de procedimiento).

Características específicas de rendimiento

A continuación se muestran los resultados típicos obtenidos con el analizador Hitachi 717[14]. Los resultados obtenidos en su laboratorio pueden ser distintos a estos datos.

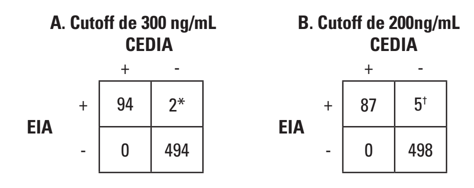
Precisión

Los estudios de la precisión medida realizados con reactivos y calibradores envasados arrojaron los siguientes resultados en mA/min con un analizador Hitachi 717 siguiendo las pautas de realización del experimento de repeticiones NCCLS modificado.

	Precisión en la serie				Precisión total			
ng/mL	150	225	300	375	150	225	300	375
n	120	120	120	120	120	120	120	120
$\bar{x}$	292,6	333,4	363,6	387,3	292,6	333,4	363,6	387,3
SD	4,15	3,36	3,32	3,21	13,6	8,91	9,69	10,47
%CV	1,4	1,0	0,9	0,8	4,7	2,7	2,7	2,7

Exactitud

Se analizaron 590 muestras de orina en el Hitachi 717 con el análisis CEDIA Cocaína, utilizando un enzimoinmunoanálisis (EIA) de tipo comercial para metabolitos de la cocaína como referencia. Los resultados se detallan a continuación:



A. Cutoff de 300 ng/mL

		CEDIA +	CEDIA -
EIA	+	94	2*
	-	0	494

B. Cutoff de 200ng/mL

		CEDIA +	CEDIA -
EIA	+	87	5†
	-	0	498

* Las muestras se analizaron mediante CG/EM y contenían 22-94 ng/mL de benzoilecgonina.
† Todas las 5 muestras se analizaron mediante CG/EM. En 4 muestras se encontraron 22-101 ng/mL de benzoilecgonina, en una muestra 169 ng/mL de benzoilecgonina.

Especificidad

Al analizar los siguientes compuestos originales y metabolitos con el análisis CEDIA Cocaína (protocolo de cutoff de 300 ng/mL), se obtuvieron los siguientes resultados porcentuales de reacción cruzada:

Sustancia	Concentracióne analizada (ng/mL)	Reacción cruzada %
Benzoilecgonina	300	100
Cocaetileno	312	57
Cocaína	312	54
Ecgonina	10,000	1.1
Ecgonina metil éster	10,000	< 0.1

Se analizaron compuestos no relacionados estructuralmente mediante el análisis CEDIA Cocaína (protocolo de cutoff de 300 ng/mL), y se obtuvieron respuestas negativas cuando se analizaron muestras con las concentraciones indicadas a continuación.

Sustancia	Concentración (ng/mL)	Sustancia	Concentración (ng/mL)
Acetaminofeno	500.000	Fenobarbital	500.000
Ácido acetilsalicílico	500.000	Fluoxetina	500.000
Ácido salicilico	500.000	Ibuprofen	500.000
Amoxicilina	100.000	Levotiroxina	50.000
Anfetamina	500.000	Metadona	500.000
Captopril	500.000	Metanfetamina	500.000
Cimetidina	500.000	Morfina	100.000
Clordiacepóxido	100.000	Nifedipina	500.000
Codeína	500.000	Propoxifeno	500.000
Diacepam	500.000	Ranitidina	500.000
Digoxina	100.000	Secobarbital	500.000
Enalapril	500.000	11-nor-Δ^9-THC-COOH	10.000
Fenciclidina	500.000	Verapamil	500.000

No se observaron interferencias de las siguientes sustancias añadidas a las concentraciones endógenas normales encontradas en orina cuando se analizaron con el análisis CEDIA Cocaína:

Sustancia	Concentración ensayada	Sustancia	Concentración ensayada
Acetona	≤ 1,0 g/dL	Galactosa	≤ 10 mg/dL
Ácido ascórbico	≤ 0,15 g/dL	γ-globulina	≤ 0,5 g/dL
Ácido oxálico	≤ 0,1 g/dL	Glucosa	≤ 1,5 g/dL
Albúmina de suero humano	≤ 0,5 g/dL	Hemoglobina	≤ 0,3 g/dL
Cloruro sódico	≤ 6,0 g/dL	Riboflavina	≤ 7,5 mg/dL
Creatinina	≤ 0,5 g/dL	Urea	≤ 2,0 g/dL
Etanol	≤ 1,0 g/dL		

Sensibilidad
El límite de detección (LDO) de la aplicación cualitativa fue 6 ng/mL y 13 ng/mL con los protocolos de cutoff de 150 ng/mL y 300 ng/mL, respectivamente.

El límite de detección (LDO) de la aplicación semicuantitativa fue 13,2 ng/mL y 19,5 ng/mL con los protocolos de cutoff de 150 ng/mL y 300 ng/mL, respectivamente.

Referencias

1. Hawks RL. Analytical methodology. In: Hawks, RL, Chiang,C N, eds. Urine Testing for Drugs of Abuse. NIDA Research Monograph 1986, 73: 30-41.
2. Gawin FH, Ellinwood EH Jr. Cocaine and other stimulants: Actions, abuse, and treatment. N. Engl. J. Med. 1988, 318: 1173-1182.
3. Jatlow, Pl. Drugs of abuse profile: Cocaine. Clin. Chem. 1987, 33(suppl): 66B-71B.
4. Bouknight LG, Bouknight RR. Cocaine - A particularly addictive drug. Postgrad. Med.1988; 83: 115-124,131.
5. Benowitz, NL, Clinical pharmacology and toxicology of cocaine. Pharmacol. & Toxicol.1993; 72: 3-12.
6. Jones RT. The pharmacology of cocaine. In: Grabowski, J. ed. Cocaine: Pharmacology, Effects and Treatment of Abuse. NIDA Research Monograph. 1984; 50: 34-53.
7. Ambre J. Urinary excretion of cocaine and metabolites in humans: A kinetic analysis of published data. J. Anal. Toxicol. 1985; 9: 241-245.
8. Ambre J, Ruo TI, Nelson J, Belknap S. Urinary excretion of cocaine, benzoylecgonine and ecgonine methyl ester in humans. J. Anal. Toxicol. 1988; 12: 301-306.
9. Weiss RD. Gawin, FH. Protracted elimination of cocaine metabolites in long-term, high-dose cocaine abusers. Am. J. Med. 1988, 85: 879-880.
10. Burke WM, et al. Prolonged presence of metabolite in urine after compulsive cocaine use. J. Clin. Psychiatry. 1990; 51:145-148.
11. Henderson DR, Friedman SB, Harris JD. et al. CEDIA®, a new homogeneous immunoassay system. Clin. Chem. 1986; 32: 1637-1641.
12 Notice of Mandatory Guidelines For Federal Workplace Drug Testing Program: Final Guidelines, Federal Register. 1994; 110 (June 9): 11983. (Las pautas revisadas se esperan para el año 2002).
13. Datos sobre trazabilidad archivados en Microgenics Corporation, parte de Thermo Fisher Scientific.
14. Datos archivados en Microgenics Corporation, parte de Thermo Fisher Scientific.



Microgenics Corporation
46360 Fremont Blvd.
Fremont, CA 94538-6406 EE.UU.
Servicio al cliente y de
asistencia técnica en EE.UU:
1-800-232-3342



EC REP

Thermo Fisher Scientific Oy
Ratastie 2, P.O. Box 100
01621 Vantaa, Finland
Tel: +358-9-329100
Fax: +358-9-32910300


Para actualizaciones de folletos, visite:
www.thermoscientific.com/diagnostics

Otros países:
Comuníquese con su representante local de Thermo Fisher Scientific.

CEDIA es una marca registrada de Roche Diagnostics.

10006475-2_ES
2012 07

